靶向 Glypican-3 的肝癌免疫治疗研究进展⁻

余琳 [1,2] 王建华 [2**] 葛良鹏 [1,3,4**]

（1 重庆市畜牧科学院 重庆 402460 2 重庆大学生物工程学院 重庆 400044）

（3 农业部养猪科学重点实验室 重庆 402460 4 养猪科学重庆市市级重点实验室 重庆 402460 ）

摘要 磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 (Glypican-3)蛋白高特异性表达于肝细胞肝癌患者中，研究表明其与肝癌的发展和转移关系密切。目前以 Glypican-3 蛋白为靶点治疗肝癌的免疫研究主要包括治疗性抗体开发、CAR-T 免疫疗法、免疫毒素及多肽疫苗等。现对 Glypican-3 的结构功能与肝癌的关系进行介绍，并简要描述靶向 Glypican-3 治疗肝癌的研究现状。

关键词 Glypican-3 肝癌 免疫治疗 抗体 CAR-T

癌症是威胁人类生命健康的重大疾病，据全球癌症数据调查显示，中国肝癌的病例数占全球的 50%[1]，肝细胞肝癌（Hepatocellular carcinoma，HCC）占原发性肝癌的 70-90%[2]。近年来，随着免疫治疗研究热，也有许多研究分子靶向药物以及治疗性抗体靶向治疗 HCC，而索拉菲尼是目前上市的唯一治疗肝癌晚期的靶向药物[3, 4]，因而，研究与开发肝癌特异性靶点药物具有重要意义。磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3（Glypican-3）是近年发现的 HCC 细胞表面特异性膜蛋白，本文综述其结构功能及免疫治疗肝癌的研究进展。

1 Glypican-3 的结构和功能

Glypican-3，即磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3，是一种硫酸乙酰肝素蛋白类聚糖，通过细胞顶膜上的糖基磷脂酰肌醇（Glycosyl-phosphatidylinositol, GPI）锚定连接于细胞表面[5]。人 Glypican-3 蛋白基因位于人染色体 Xq26 上，编码 580 个氨基酸残基蛋白前体[6]。Glypican-3 核心蛋白约 70kDa，在 358 位精氨酸（Arg）和 359 位丝氨酸（Ser）之间，可被弗林蛋白酶裂解成一个 40kDa 的氨基末端蛋白和一个与膜结合的 30kDa 羧基端蛋白[7]。核心蛋白羧基端蛋白的 495 位 Ser 和 509 位 Ser 分别连有一条硫酸乙酰肝素糖链（Heparan sulfate, HS），参与生理功能的调节，而 Glypican-3 蛋白 560 位的 Ser 被预测是与 GPI 结合的位置[8]。目前

⁻重庆市五大功能区域人源化抗体开发创新创业团队（17301）、重庆市农发资金项目（17406）

⁻⁻通讯作者，电子信箱： geliangpeng1982@163.com

Glypican-3 蛋白还未能解析出晶体结构，基本结构见图 1。

1988 年 GPC3 基因在大鼠肠上皮细胞系中被 Filmus 等首次检测到[9]。人 Glypican-3 蛋白在胎盘和胎儿发育期间表达于除神经系统外的大多数组织，如肝、肾、肺等，在成人器官中显著减少[10, 11]。Giuseppe 等发现突变 Glypican-3 氨基酸会导致胎儿过度生长综合症（Simpson-Golabi-Behmel syndrome, SGBS）[12]，可能与 GPC3 的 HS 链和成纤维生长因子 2（FGF2）相互作用有关[13]。此后 Mark 等人也证明该蛋白基因丢失与 SGBS 发生相关[14]，Mariana 等研究认为 Glypican-3 作为负调节蛋白参与 Hh 信号通路也与 SGBS 的产生相关联[15]。

Glypican-3 蛋白在不同发育时期表达不同，不同组织中表达量也有差异，尤其是在正常组织和癌组织中[11, 16]，而不同癌组织中表达也差异显著，在胃癌、乳腺癌、卵巢癌和恶性间皮瘤中低表达或不表达[17-20]，在 HCC 中过度表达，与 HCC 发展和转移中密切相关[21, 22]。目前许多研究认为 Glypican-3 蛋白是一种癌蛋白，在肝癌免疫治疗中具有很大潜力。

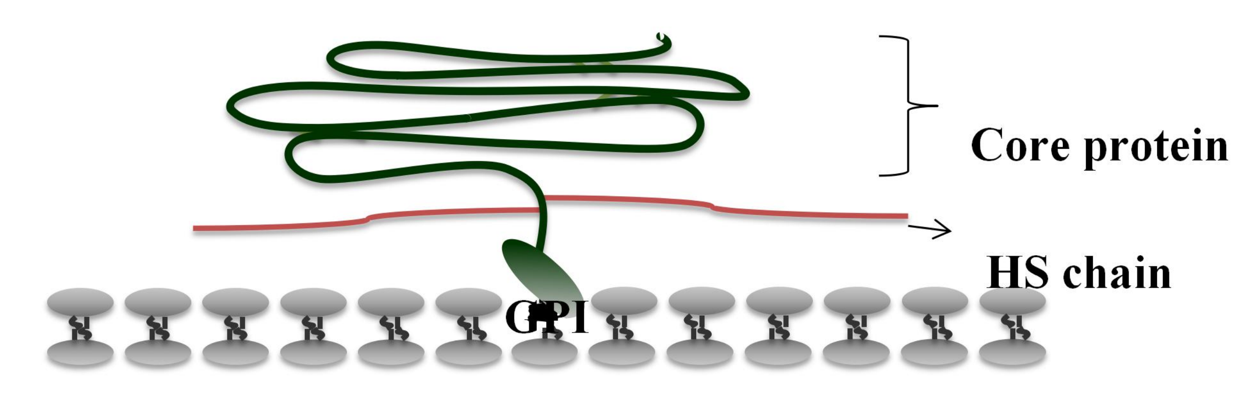


图 1　Glypican-3 结构简图

Fig.1　Schematic structure of Glypican-3

2　Glypican-3 与肝细胞肝癌

Hus 等[23]对 191 例肝癌患者（74.8% HCC）mRNA 样本进行分析，首次发现 Glypican-3 在成人肝癌患者中过表达；通过 Northern 印迹分析结果显示在正常成人健康肝脏、局灶性结节性增肝和肝硬化中 GPC3 mRNA 低表达或不存在，而在 HCC 患者中异常高表达[24]；对 HCC 患者组织进行免疫组化分析和可溶性 Glypican-3 蛋白 N 端免疫酶联分析结也表明该蛋白是肝癌重要的细胞及血清标记物[18, 22, 25, 26]。

目前对于 Glypican-3 蛋白过表达诱导 HCC 的机制复杂，没有完全清楚，但有几项研究结果也部分揭示了其可能致癌作用见图 2。体内外实验研究[27-29]指出 Glypican-3 蛋白与 Wnt 蛋白结合，促进 Wnt 与卷曲蛋白受体（Frizzled）的结合形成复合物，稳定了下游β-连环蛋白（β-catenin）在胞质内聚集，增强信号强度，进一步上调细胞核内相关转录因子（LEF/TLF），促进 C-myc 或其他癌基因表达，使其与 GPC3 启动子结合[30]；而同时研究还发现当 Glypican-3 的表达水平提高又能促进 C-myc 的表达，两者形成一个正反馈信号回路[31]，最终致使 HCC 的发生与发展。Wu 等[32]研究提出，在 HCC 患者中 Glypican-3 蛋白与肿瘤上皮间质转化（Epithelial-mesenchymal transition, EMT）的发生紧密相关：细胞迁移侵袭试验中内源性高水平表达 GPC3 的肝癌细胞 HepG2 相比 Hep3B 和 Huh7 具有更强转移、侵袭能力和 EMT 样变化。

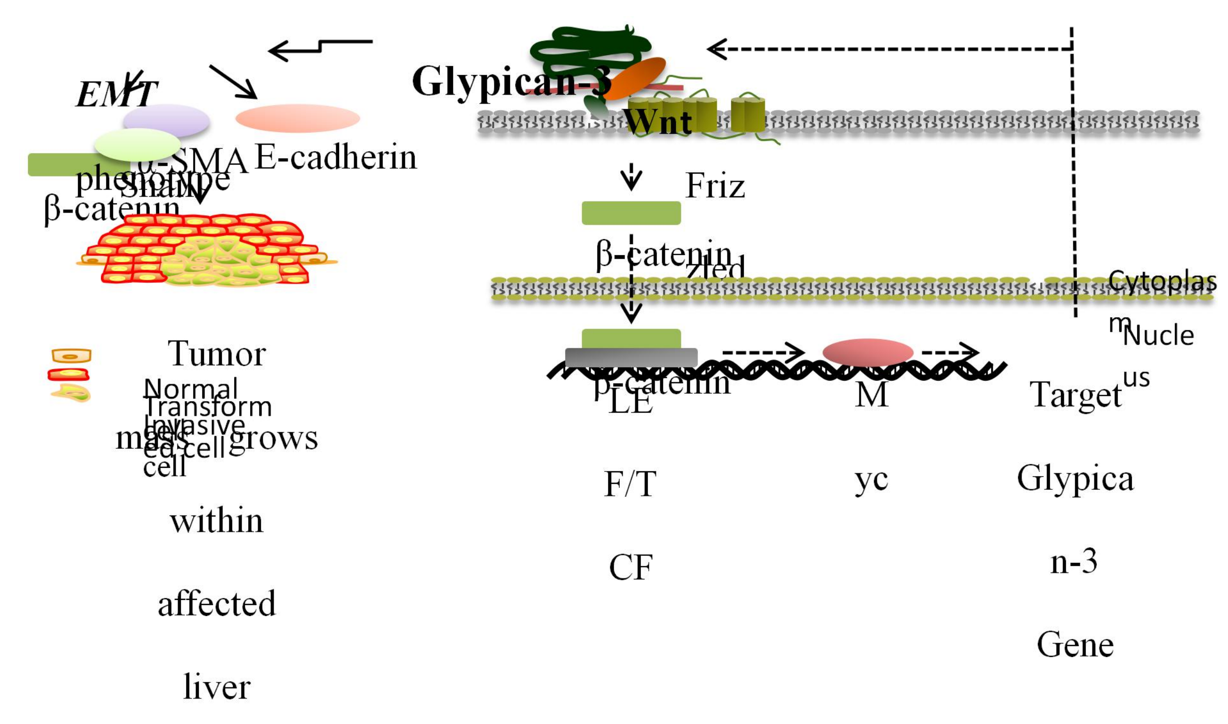


图 2　Glypican-3 促进 HCC 发展作用机制

Fig.2　Positive effect of Glypican-3 on HCC

3　靶向 Glypican-3 的免疫治疗

3.1　Glypican-3 的治疗性抗体研究

Takahiro 等[33-35]首次报道了抗人 Glypican-3 单克隆抗体 GC33 (IgG2a, κ)能够诱导抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用（Antibody-dependent cell-mediated

cytotoxicity, ADCC），可作为肝癌患者的潜力药物。此人源化抗体 GC33 是通过人 Glypican-3 蛋白 COOH 端的 40 个氨基酸免疫 MRL/lpr 小鼠筛选并人源化改造得到的单抗，能够明显抑制 HepG2 和 Huh7 肝癌裸鼠肿瘤的生长；将 GC33 的 297 位天冬酰胺突变后发现抗体的 ADCC 减弱，其抗肿瘤活性降低，同时也证明该单克隆抗体的抗肿瘤活性主要是介导了 ADCC 作用，产生了大量自然杀伤细胞。2016 年 GC33 抗体完成临床二期试验，但在治疗晚期或转移性 HCC 患者疗效果不理想[36]。

Phung 等利用高通量流式分选的方法筛选出对 HCC 裸鼠移植瘤具有显著抑制的单抗 YP7[37]。YP7 是用人 Glypican-3 肽段（511-560）免疫得到的鼠单克隆抗体，与 HCC 细胞表面的 Glypican-3 具有高亲和力，测得其平衡解离常数 K_D 约 0.3nmol/L，而与正常组织和其他原发性肝癌无作用。HN3 是 Feng 等利用噬菌体抗体库筛选得到的人源重链单域抗体，只含可变区 VH 与 Fc 部分[38]。HN3 能够特异性与 Glypican-3 核心蛋白结合，体外抑制肝癌细胞生长，可能是通过作用 Yes 相关蛋白的信号通路阻滞细胞周期 G1 期，其给药剂量达到皮摩尔级；HN3 也能对体内裸鼠瘤产生生长抑制效果。由于 HN3 分子量相对较小、亲和力高，研究报道将其作为药物载体靶向治疗 HCC 且比 YP7 更有优势[39]：将 HN3 与 YP7 抗体与光敏酞菁染料（IR700）偶联后给药 GPC3 阳性肿瘤小鼠，荧光观察发现 HN3- IR700 组比 YP7-IR700 组更快渗透到肿瘤组织。

HS20 是特异性与 Glypican-3 蛋白 HS 糖链结合的单抗，通过下调 Wnt 信号通路产生抗肿瘤活性，研究还发现 HS20 也可能同时作用于 Wnt3a 及肝细胞生长因子（HGF），从而抑制 HCC 细胞 Hep3B 和 Huh-7 的迁移、运动和增殖[40]。

3.2 Glypican-3 的 CAR-T 免疫疗法

嵌和抗原受体 T 细胞疗法（Chimeric Antigen Receptor T-Cell Immunotherapy, CAR-T）已被证实是一种有效的肿瘤免疫治疗策略[41]，Gao 等[42]首次构建了靶向 GPC3 的 CAR-T 细胞，即基于 GC33 单抗的 scFv 融合 CD28、CD137 和 CD3ζ的第三代 CAR-T，能诱导产生细胞因子 IL-2 和 IFNγ，在体外试验表现出有效地裂解 GPC3 阳性肝癌细胞，体内能抑制裸鼠 Glypican-3 阳性的异位和原位移植瘤生长。

Jiang 等[43]利用人源性组织异位移植模型（Patient-derived tumor xenograft,

PDX）构建了三个不同 Glypican-3 阳性的 HCC 病人 PDX 肿瘤模型小鼠，使得保持了与原肿瘤的分化程度、形态特征及免疫学标志等，进而用第三代 CAR-T 技术构建抗 Glypican-3 CAR-T 细胞能够有效作用于 HCC 细胞和 PDX 肿瘤。

"双抗原"CAR-T 系统近年开发的一种更精准识别肿瘤 T 细胞改造技术[44]，Glypican-3 和去唾液酸糖蛋白受体 1 两种蛋白均过表达于 HCC 细胞表面，Chen 等[45]构建了靶向这两种蛋白的 CAR-T 细胞，抗肿瘤实验结果表明该种 T 细胞能够高效刺激细胞因子（如 IL-2、IFN-γ、TNF-α和 IL-4）分泌诱导肝肿瘤细胞的凋亡。

3.3 Glypican-3 的免疫毒素研究

免疫毒素是以植物毒素或细菌毒素为毒性分子，偶联抗体或细胞因子靶向杀伤肿瘤细胞。Gao 等[46]实验室利用的 Glypican-3 抗体 YP7 与 HN3 分别融合绿脓杆菌毒素 A（PE38）在体内外均具有抗肿瘤活性，并且发现 HN3-PE38 效果更佳。实验表明 HN3-PE38 能作用于 Wn/β-catenin 信号通路，同时也能通过 Wnt3a 蛋白间接抑制 Yap 信号通路，进而抑制癌细胞生长。由于在小鼠体内，HN3-PE38 的抗肿瘤最低有效浓度为 0.8mg/kg，而这这一浓度已经对小鼠产生一定毒副作用，因而该实验室又进一步将 PE38 结构域Ⅱ和Ⅲ进行突变，去除 B 细胞抗原表位，降低其免疫原性，再与 HN3 抗体构建了重组免疫毒素 HN3-mPE24 和 HN3-HN3-mPE24[47]，仍保持具原抗肿瘤活性，裸鼠体内实验结果也显示能够耐受更高剂量免疫毒素，可作为治疗 HCC 的潜力药物。

3.4 Glypican-3 相关多肽疫苗研究

多肽疫苗是新一代疫苗研究的热点，在肿瘤免疫治疗中，可用已知肿瘤相关抗原或其衍生肽利用化学合成技术来制备疫苗。现已研究证明两个与人类主要组织相容性复合体（Human leukocyte antigen，HLA）I 类结合的 GPC3 限制性表位肽：$GPC3_{298-306}$ 和 $GPC3_{144-152}$ ，以及一个与鼠主要组织相容性复合体（Histocompatibility-2，H2）结合的抗原肽：$GPC3_{127-136}$，这几个多肽能与细胞毒性 T 淋巴细胞（Cytotoxic T lymphocyte ，CTL）结合发挥抗肿瘤作用[48-50]。

但临床上一些病人对 GPC3 多肽疫苗的治疗效果不佳[51]，因而该实验团队在此基础上利用脂质体（Liposome）作为疫苗佐剂[52]，将其与两个不同 GPC3 多肽偶联进行，并加入 CpG 寡核苷酸，构建了 pGPC3(A2)-liposome/CpG 与

pGPC3(B6)-liposome/CpG 疫苗进行小鼠接种，实验结果证明相比传统的不完全弗氏佐剂疫苗，其用量更低，同时能够更有效的激活 CTL 细胞，在抑制裸鼠 GPC3 阳性肿瘤的的生长方面也具有良好的效果。

表 1　靶向 Glypican-3 的肝癌治疗性抗体研究

Table1　Study of therapeutic antibodies targeting Glypican-3 in HCC

名称	抗体类型	研究阶段	文献
GC33	IgG，人源化	临床二期（已完成）	[33-36]
YP7	IgG，人源化	临床前	[37]
HN3	VH-hFc，全人源	临床前	[38]
HS20	scFv，全人源	临床前	[40, 53]
ERY974	GPC3/CD3-bispecific antibody，人源化	临床一期	https://clinicaltrials.gov/NCT02748837

表 2　临床靶向 Glypican-3 治疗肝癌的 CAR-T 研究

Table2　Clinical study of CAR-T therapy targeting Glypican-3 in HCC

临床标识号	开始时间	研究阶段	联合治疗	研究机构
NCT02395250	2015 年 3 月	临床一期（已终止）	-	上海仁济医院
NCT02723942	2015 年 6 月	临床一期	-	广州复大肿瘤医院
NCT02715362	2016 年 3 月	临床一期	-	上海吉凯基因化学公司
NCT03130712	2017 年 4 月	临床一期	-	上海吉凯基因化学公司
NCT03146234	2017 年 3 月	临床一期	-	上海仁济医院 上海科济生物医药公司
NCT03084380	2017 年 6 月	临床一期	肝肿瘤经动脉化疗栓塞(氟达拉滨、环磷酰胺)	重庆新桥医院
NCT02905188	2018 年 1 月	临床一期	淋巴细胞删除性化疗（氟达拉滨、环磷酰胺）	美国贝勒医学院

4　总结与展望

在肿瘤临床治疗中，免疫靶向治疗作为一种配合手术、化疗等其他疗法的辅

助手段，越来越受到重视。肿瘤免疫治疗可通过增强机体免疫反应，激发肿瘤特异性免疫，减少肿瘤的复发、转移，甚至治愈肿瘤[54]。Glypican-3 蛋白过表达于 HCC 表面，还是具有巨大潜力作为靶点免疫治疗 HCC，现已有几种在研的治疗性抗体见和 Glypican-3 的 CAR-T 细胞进入临床试验表 1 和表 2。但有研究报道可溶性 GPC3 能够抑制 HCC 细胞的增殖[55]，因而需要进一步研究 Glypican-3 结构和功能的关系，探讨其致癌机制。有关可溶性 Glypican-3 蛋白以及 Glypican-3 多肽疫苗研究表明[7, 56-58]，Glypican-3 作为早期或预后标志在肝癌辅助治疗中也具有重要意义。

目前，多靶点联合抑制肝癌或针对不同作用机制进行药物开发，如开发双功能抗体或多功能抗体、抗体偶联药物等，以及寻找更特异性的肝癌治疗靶点，联合肝移植、手术切除、化学疗法、放射疗法或介入疗法等其他疗法可能在肝癌治疗中取得更大成功。

参考文献

[1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 . CA: a cancer journal for clinicians, 2015, 65(2): 87-108.

[2] TORRE L A, SIEGEL R L, WARD E M, et al. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update. Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology, 2016, 25(1): 16-27.

[3] GALLE P R. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma - We have won a battle not the war. J Hepatol, 2008, 49(5): 871-873.

[4] OHRI N, KAUBISCH A, GARG M, et al. Targeted Therapy for Hepatocellular Carcinoma. Semin Radiat Oncol, 2016, 26(4): 338-343.

[5] FILMUS J, SHI W, WONG Z M, et al. Identification of a new membrane-bound heparan sulphate proteoglycan. The Biochemical journal, 1995, 311 (Pt 2):561-565.

[6] FILMUS J, CAPURRO M, RAST J. Glypicans. Genome biology, 2008, 9(5): 224.

[7] HIPPO Y, WATANABE K, WATANABE A, et al. Identification of soluble NH2-terminal fragment of glypican-3 as a serological marker for early-stage hepatocellular carcinoma. Cancer Research, 2004, 64(7): 2418-2423.

[8] HO M, KIM H. Glypican-3: a new target for cancer immunotherapy. European journal of cancer, 2011, 47(3): 333-338.

[9] FILMUS J, CHURCH J G, BUICK R N. Isolation of a cDNA corresponding to a developmentally regulated transcript in rat intestine. Molecular and cellular biology, 1988, 8(10): 4243-4249.

[10] SONG H H, FILMUS J. The role of glypicans in mammalian development. Biochimica et biophysica acta, 2002, 1573(3): 241-246.

[11] IGLESIAS B V, CENTENO G, PASCUCCELLI H, et al. Expression pattern of glypican-3 (GPC3) during human embryonic and fetal development. Histology and histopathology, 2008, 23(11):

1333-1340.
[12] PILIA G, HUGHESBENZIE R M, MACKENZIE A, et al. Mutations in GPC3, a glypican gene, cause the Simpson-Golabi-Behmel overgrowth syndrome. Nature Genetics, 1996, 12(3): 241-247.
[13] SONG H H, SHI W, FILMUS J. OCI-5/rat glypican-3 binds to fibroblast growth factor-2 but not to insulin-like growth factor-2. The Journal of biological chemistry, 1997, 272(12): 7574-7577.
[14] VEUGELERS M, CAT B D, MUYLDERMANS S Y, et al. Mutational analysis of the GPC3/GPC4 glypican gene cluster on Xq26 in patients with Simpson-Golabi-Behmel syndrome: identification of loss-of-function mutations in the GPC3 gene. Human molecular genetics, 2000, 9(9): 1321-1328.
[15] CAPURRO M I, XU P, SHI W, et al. Glypican-3 inhibits Hedgehog signaling during development by competing with patched for Hedgehog binding. Developmental cell, 2008, 14(5): 700-711.
[16] FILMUS J. Glypicans in growth control and cancer. Glycobiology, 2001, 11(3): 19R-23R.
[17] XIANG Y Y, LADEDA V, FILMUS J. Glypican-3 expression is silenced in human breast cancer [J]. Oncogene, 2001, 20(50): 7408-7412.
[18] WICHERT A, STEGE A, MIDORIKAWA Y, et al. Glypican-3 is involved in cellular protection against mitoxantrone in gastric carcinoma cells. Oncogene, 2004, 23(4): 945-955.
[19] LIN H, HUBER R, SCHLESSINGER D, et al. Frequent silencing of the GPC3 gene in ovarian cancer cell lines. Cancer Res, 1999, 59(4): 807-810.
[20] MURTHY S S, SHEN T, DE RIENZO A, et al. Expression of GPC3, an X-linked recessive overgrowth gene, is silenced in malignant mesothelioma. Oncogene, 2000, 19(3): 410-416.
[21] SUNG Y K, HWANG S Y, PARK M K, et al. Glypican-3 is overexpressed in human hepatocellular carcinoma. Cancer science, 2003, 94(3): 259-262.
[22] BAUMHOER D, TORNILLO L, STADLMANN S, et al. Glypican 3 expression in human nonneoplastic, preneoplastic, and neoplastic tissues: a tissue microarray analysis of 4,387 tissue samples. American journal of clinical pathology, 2008, 129(6): 899-906.
[23] HSU H C, CHENG W, LAI P L. Cloning and expression of a developmentally regulated transcript MXR7 in hepatocellular carcinoma: biological significance and temporospatial distribution. Cancer Res, 1997, 57(22): 5179-5184.
[24] ZHU Z W, FRIESS H, WANG L, et al. Enhanced glypican-3 expression differentiates the majority of hepatocellular carcinomas from benign hepatic disorders. Gut, 2001, 48(4): 558-564.
[25] YAMAUCHI N, WATANABE A, HISHINUMA M, et al. The glypican 3 oncofetal protein is a promising diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc, 2005, 18(12): 1591-1598.
[26] HARUYAMA Y, YORITA K, YAMAGUCHI T, et al. High preoperative levels of serum glypican-3 containing N-terminal subunit are associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after partial hepatectomy. Int J Cancer, 2015, 137(7): 1643-1651.
[27] CAPURRO M I, XIANG Y-Y, LOBE C, et al. Glypican-3 promotes the growth of hepatocellular carcinoma by stimulating canonical Wnt signaling. Cancer Research, 2005, 6245-6254.
[28] CAPURRO M, MARTIN T, SHI W, et al. Glypican-3 binds to Frizzled and plays a direct role in the stimulation of canonical Wnt signaling. Journal of cell science, 2014, 127(Pt 7): 1565-1575.
[29] WANDS J R, KIM M. WNT/beta-catenin signaling and hepatocellular carcinoma. Hepatology, 2014, 60(2): 452-454.
[30] HANN S R. Role of post-translational modifications in regulating c-Myc proteolysis, transcriptional activity and biological function. Seminars in cancer biology, 2006, 16(4): 288-302.

[31] LI L, JIN R, ZHANG X, et al. Oncogenic activation of glypican-3 by c-Myc in human hepatocellular carcinoma. Hepatology, 2012, 56(4): 1380-1390.
[32] WU Y, LIU H, WENG H, et al. Glypican-3 promotes epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells through ERK signaling pathway. International journal of oncology, 2015, 46(3): 1275-1285.
[33] ISHIGURO T, SUGIMOTO M, KINOSHITA Y, et al. Anti-glypican 3 antibody as a potential antitumor agent for human liver cancer. Cancer Res, 2008, 68(23): 9832-9838.
[34] NAKANO K, ORITA T, NEZU J, et al. Anti-glypican 3 antibodies cause ADCC against human hepatocellular carcinoma cells. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 378(2): 279-284.
[35] NAKANO K, ISHIGURO T, KONISHI H, et al. Generation of a humanized anti-glypican 3 antibody by CDR grafting and stability optimization. Anti-Cancer Drugs, 2010, 21(10): 907-916.
[36] ABOU-ALFA G K, PUIG O, DANIELE B, et al. Randomized phase II placebo controlled study of codrituzumab in previously treated patients with advanced hepatocellular carcinoma. J Hepatol, 2016, 65(2): 289-295.
[37] PHUNG Y, GAO W, MAN Y G, et al. High-affinity monoclonal antibodies to cell surface tumor antigen glypican-3 generated through a combination of peptide immunization and flow cytometry screening. mAbs, 2012, 4(5): 592-599.
[38] FENG M, GAO W, WANG R, et al. Therapeutically targeting glypican-3 via a conformation-specific single-domain antibody in hepatocellular carcinoma. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(12): E1083-E1091.
[39] HANAOKA H, NAGAYA T, SATO K, et al. Glypican-3 targeted human heavy chain antibody as a drug carrier for hepatocellular carcinoma therapy. Molecular pharmaceutics, 2015, 12(6): 2151-2157.
[40] WONG C-M, GAO W, KIM H, et al. Human Monoclonal Antibody Targeting the Heparan Sulfate Chains of Glypican-3 Inhibits HGF-Mediated Migration and Motility of Hepatocellular Carcinoma Cells. PloS one, 2015, 10(9): e0137664.
[41] COUZIN-FRANKEL J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy [J]. Science, 2013, 342(6165): 1432-1433.
[42] GAO H, LI K, TU H, et al. Development of T cells redirected to glypican-3 for the treatment of hepatocellular carcinoma. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research, 2014, 20(24): 6418-6428.
[43] JIANG Z, JIANG X, CHEN S, et al. Anti-GPC3-CAR T Cells Suppress the Growth of Tumor Cells in Patient-Derived Xenografts of Hepatocellular Carcinoma. Frontiers in immunology, 2016, 7:690.
[44] ROYBAL K T, RUPP L J, MORSUT L, et al. Precision Tumor Recognition by T Cells With Combinatorial Antigen-Sensing Circuits. Cell, 2016, 164(4): 770-779.
[45] CHEN C, LI K, JIANG H, et al. Development of T cells carrying two complementary chimeric antigen receptors against glypican-3 and asialoglycoprotein receptor 1 for the treatment of hepatocellular carcinoma. Cancer immunology, immunotherapy : CII, 2017, 66(4): 475-489.
[46] GAO W, TANG Z, ZHANG Y F, et al. Immunotoxin targeting glypican-3 regresses liver cancer via dual inhibition of Wnt signalling and protein synthesis. Nature communications, 2015, 6:6536.
[47] WANG C, GAO W, FENG M, et al. Construction of an immunotoxin, HN3-mPE24, targeting glypican-3 for liver cancer therapy. Oncotarget, 2017, 8(20): 32450-32460.
[48] KOMORI H, NAKATSURA T, SENJU S, et al. Identification of HLA-A2- or HLA-A24-restricted

CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy of hepatocellular carcinoma. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research, 2006, 12(9): 2689-2697.
[49] MOTOMURA Y, IKUTA Y, KURONUMA T, et al. HLA-A2 and-A24-restricted glypican-3-derived peptide vaccine induces specific CTLs: Preclinical study using mice. Int J Oncol, 2008, 32(5): 985-990.
[50] IWAMA T, HORIE K, YOSHIKAWA T, et al. Identification of an H2-Kb or H2-Db restricted and glypican-3-derived cytotoxic T-lymphocyte epitope peptide. Int J Oncol, 2013, 42(3): 831-838.
[51] SAWADA Y, YOSHIKAWA T, NOBUOKA D, et al. Phase I trial of a glypican-3-derived peptide vaccine for advanced hepatocellular carcinoma: immunologic evidence and potential for improving overall survival. Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research, 2012, 18(13): 3686-3696.
[52] IWAMA T, UCHIDA T, SAWADA Y, et al. Vaccination with liposome-coupled glypican-3-derived epitope peptide stimulates cytotoxic T lymphocytes and inhibits GPC3-expressing tumor growth in mice. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2016, 469(1): 138-143.
[53] GAO W, KIM H, FENG M, et al. Inactivation of Wnt signaling by a human antibody that recognizes the heparan sulfate chains of glypican-3 for liver cancer therapy. Hepatology, 2014, 60(2): 576-587.
[54] NEVES H, KWOK H F. Recent advances in the field of anti-cancer immunotherapy. BBA clinical, 2015, 3:280-288.
[55] FENG M, KIM H, PHUNG Y, et al. Recombinant soluble glypican 3 protein inhibits the growth of hepatocellular carcinoma in vitro. International Journal of Cancer, 2011, 128(9): 2246-2247.
[56] WANG H L, ANATELLI F, ZHAI Q J, et al. Glypican-3 as a useful diagnostic marker that distinguishes hepatocellular carcinoma from benign hepatocellular mass lesions. Archives of pathology & laboratory medicine, 2008, 132(11): 1723-1728.
[57] QIN Z, WANG J, WANG Y, et al. Identification of a Glypican-3-Binding Peptide for In Vivo Non-Invasive Human Hepatocellular Carcinoma Detection. Macromolecular bioscience, 2016,
[58] SAWADA Y, YOSHIKAWA T, OFUJI K, et al. Phase II study of the GPC3-derived peptide vaccine as an adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma patients. Oncoimmunology, 2016, 5(5): e1129483.

Advance in Immunotherapy Research of Hepatocellular Carcinoma Targeting Glypican-3

YU Lin [1,2]　Wang Jian-hua[2]　GE Liang-peng[1,3,4]

（1 Chongqing Academy of Animal Sciences，Chongqing　402460，　China）

(Bioengineering College of Chongqing University,　Chongqing　400044,　China)

（3 Key Laboratory of Pig Industry Sciences，　Ministry of Agriculture，Chongqing　402460，　China）

(3 Chongqing Key Laboratory of Pig Industry Sciences，Chongqing　402460，　China)

Abstract Researchs shows that Glypican-3 expresses in hepatocellular carcinoma (HCC) patients

with high specificity and is closely related to development of hepatocarcinoma. Including therapeutic antibody, Chimeric Antigen Receptor T-Cell Immunotherapy (CAR-T) , immunotoxin and vaccine are the focus of targeting Glypican-3 for immunotherapy in HCC at present. The structure and function of Glypican-3 is reviewed, as well as the progress of immunotherapy based on Glypican-3 in HCC is briefly described.

Key words Glypican-3 HCC immunotherapy antibody CAR-T